

L1 ANSWER 2 OF 3 WPINDEX COPYRIGHT 2005 THE THOMSON CORP on STN
AN 1999-543907 [46] WPINDEX
DNC C1999-158944

TI Tyrosinase production promoter - useful for cosmetics e.g. hair and
sun-tan cosmetics.

DC D16 D21

PA (MAND-N) MANDOM KK

CYC 1

PI JP 11228337 A 19990824 (199946) * 2 A61K007-00 <--

ADT JP 11228337 A JP 1998-41229 19980206

PRAI JP 1998-41229 19980206

IC ICM A61K007-00

ICS A61K007-06; A61K007-42; A61K007-48

AB JP 11228337 A UPAB: 19991110

NOVELTY - The tyrosinase production promoter contains extract of the
mixture of red pepper. Products of *Orthosiphon aristatus* BI and
Melaleuca leucadendra L. DETAILED DESCRIPTION - An INDEPENDENT CLAIM is
also included for the cosmetics for hair and suntan.

USE - As cosmetic for hair and suntan.

ADVANTAGE - The ingredient does not give toxicity to the scalp and
skin and also prevents white hair formation.

Dwg.0/0

FS CPI

FA AB

MC CPI: D05-A02A; D08-B03; D08-B09A; D09-E

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平11-228337

(43) 公開日 平成11年(1999) 8月24日

(51) Int. Cl. ⁶	識別記号	F I	
A61K 7/00		A61K 7/00	K
			W
7/06		7/06	
7/42		7/42	
7/48		7/48	
		審査請求	未請求 請求項の数 3 F D (全 6 頁)

(21) 出願番号 特願平10-41229

(22) 出願日 平成10年(1998) 2月6日

(71) 出願人 390011442

株式会社マングラム

大阪府大阪市中央区十二軒町 5 番12号

(72) 発明者 中口 修

大阪市中央区十二軒町 5 番12号 株式会社
マングラム中央研究所内

(72) 発明者 岡本 裕也

大阪市中央区十二軒町 5 番12号 株式会社
マングラム中央研究所内

(72) 発明者 坂野 俊宏

大阪市中央区十二軒町 5 番12号 株式会社
マングラム中央研究所内

(74) 代理人 弁理士 清原 義博

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 チロシナーゼ生合成促進剤及び頭髮用化粧料並びに日焼け用化粧料

(57) 【要約】

【課題】 細胞に毒性を与えることなくチロシナーゼの生合成を促進させることにより、毛髪の黒色化や肌の褐色化を促進することのできるチロシナーゼ生合成促進剤及び頭髮用化粧料並びに日焼け用化粧料の提供にある。

【解決手段】 ネジトウガラシ(*Helicteres isora* L., *S terculiaceae*)、クミスクチン(*Orthosiphon aristatus* Bl.)、カユプテ(*Melaleuca leucadendra* L.)及びこれらの抽出物のうちの少なくとも1種が有効成分として配合されてなることを特徴とするチロシナーゼ生合成促進剤及びこのチロシナーゼ生合成促進剤が配合されてなる頭髮用化粧料並びに日焼け用化粧料とする。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 ネジトウガラシ(*Helicteres isora* L., *Sterculiaceae*)、クミスクチン(*Orthosiphon aristatus* Bl.)、カユプテ (*Melaleuca leucadendra* L.) 及びこれらの抽出物のうちの少なくとも 1 種が有効成分として配合されてなることを特徴とするチロシナーゼ生成促進剤。

【請求項 2】 請求項 1 記載のチロシナーゼ生成促進剤が配合されてなることを特徴とする頭髮用化粧料。

【請求項 3】 請求項 1 記載のチロシナーゼ生成促進剤が配合されてなることを特徴とする日焼け用化粧料。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明はチロシナーゼ生成促進剤及び頭髮用化粧料並びに日焼け用化粧料に関し、その目的は、細胞に毒性を与えることなくチロシナーゼの生合成を促進させることにより、毛髪の黒色化や肌の褐色化を促進することのできるチロシナーゼ生成促進剤及び頭髮用化粧料並びに日焼け用化粧料を提供することにある。

【0002】

【従来の技術】人の皮膚や毛髪の色調を決定するのはメラニンであるが、このメラニンは、色素細胞内の小器官である色素顆粒でチロシンがチロシナーゼにより酸化されることにより生成される。上記メラニンは、黒色に近い褐色の色素であるユーメラニン及び、赤又は黄色の色素であるフェオメラニンの 2 種類に分けることができ、この 2 種類のメラニンの量により皮膚や毛髪の色調が決定されると考えられている。

【0003】一方、毛髪の白毛化は、老化の代表的な現象として認められており、また、臨床的に多くの皮膚疾患の症候としても知られている。その主な原因は、栄養障害などによるチロシナーゼの消失や色素細胞の消滅によるメラニン形成中絶にあると考えられている。白髪を黒色化する方法としては、染毛剤による毛染めが最も一般的で、また、マウスにおいて、大量の p-アミノ安息香酸の投与による白髪の黒色化が報告されている。

【0004】メラニンは、上述した如く、チロシンがチロシナーゼにより酸化されることにより生成されるが、この生成を促進するのが紫外線である。つまり、紫外線照射によりメラニン生成が促進され、肌の褐色化が起るため、褐色の肌を望んで日光浴をする者も多い。しかしながら、過度の紫外線は人の皮膚にとって有害で、皮膚の老化や皮膚癌発生などをもたらす可能性がある。従って、肌の褐色化を望む場合には、皮膚の健康に影響を与えないように紫外線照射量を最小限にするのが望ましいが、紫外線照射量を抑えてメラニンの生成のみを促進させることは非常に困難であり、生理的に肌の褐色化を促進する方法は存在しない。そこで現在は美容上の手段としてジヒドロキシアセトンとアミノ酸類による M a i

l l a r d 反応により肌を褐色に見せかけることが行われている。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】しかしながら、上述したような、白髪の黒色化としてマウスで認められている大量の p-アミノ安息香酸の投与は、人への応用には至っておらず、しかも、この p-アミノ安息香酸が、毛髪の黒色化に影響を与えるチロシナーゼ生成促進作用を有するという報告はない。即ち、毛髪の白髪化に対する有効な治療法や予防法は確立されておらず、現在は、美容上の手段として染毛剤による白髪染めが行われているにすぎない。また、肌の褐色化についても、上述した如く、生理的に肌の褐色化を促進する方法は存在しないため、美容上の手段として M a i l l a r d 反応により肌を褐色に見せかけることが行われているにすぎない。

【0006】ところが、前記したような、美容上の手段による毛髪の黒色化や肌の褐色化は、持続性が低く、また、毛髪や皮膚に悪影響を及ぼす恐れがあるという欠点を有している。そこで、メラニンの生成に関与するチロシナーゼの生合成を、細胞に毒性を与えることなく促進させることができ、毛髪の黒色化や肌の褐色化を目的とする化粧料や医薬品、医薬部外品等の配合材料として好適に使用することのできるチロシナーゼ生成促進剤の創出が望まれており、本発明者らは、既に特開平 8-268863 号において、ガラナ(*Paullinia cupana* Kunt h.) の抽出物がチロシナーゼ生成促進剤として有効であることを開示している。本発明者らは、優れたチロシナーゼ生成促進作用を有し、しかも安全性の高いチロシナーゼ生成促進剤に関する鋭意研究を更に続けたところ、ネジトウガラシ(*Helicteres isora* L., *Sterculiaceae*)、クミスクチン(*Orthosiphon aristatus* Bl.) 及びカユプテ (*Melaleuca leucadendra* L.) もまた、優れたチロシナーゼ生成促進作用を有することを見出し、本発明の完成に至った。

【0007】

【課題を解決するための手段】即ち、請求項 1 に係る発明は、ネジトウガラシ(*Helicteres isora* L., *Sterculiaceae*)、クミスクチン(*Orthosiphon aristatus* Bl.)、カユプテ (*Melaleuca leucadendra* L.) 及びこれらの抽出物のうちの少なくとも 1 種が有効成分として配合されてなることを特徴とするチロシナーゼ生成促進剤に関し、また請求項 2 に係る発明は、請求項 1 記載のチロシナーゼ生成促進剤が配合されてなることを特徴とする頭髮用化粧料に関し、更に請求項 3 に係る発明は、請求項 1 記載のチロシナーゼ生成促進剤が配合されてなることを特徴とする日焼け用化粧料に関する。

【0008】

【発明の実施の形態】本発明に係るチロシナーゼ生成促進剤には、ネジトウガラシ(*Helicteres isora* L., *Sterculiaceae*)、クミスクチン(*Orthosiphon aristatus* B

10

20

30

40

50

1.)、カユプテ (*Melaleuca leucadendra* L.) より選択された1種以上の植物が用いられる。

【0009】ネジトウガラシ (*Helicteres isora* L., *Sterculiaceae*) は、アオギリ科ヤンバルゴマ属に属する半常緑の低木で、インド、東南アジアからオーストラリアにかけて分布している。クミスクチン (*Orthosiphon aristatus* Bl.) は、シソ科ネコノヒゲ属に属する高さ0.3~2mの多年草で、インドから東南アジア、マレーシア、オーストラリア北部、太平洋諸島で広く栽培されている。また、カユプテ (*Melaleuca leucadendra* L.) はフトモモ科コバノブラッシノキ属に属する高さ10~20mの常緑高木で、マレーシアからオーストラリア北部に分布している。

【0010】本発明においては上記3種の植物の地上部、地下部の全部が使用可能で、全草を使用することも、葉部、茎部、花部、果実部、種子、根部等を単独で或いは混合して使用することも可能であるが、ネジトウガラシ (*Helicteres isora* L., *Sterculiaceae*) を用いる場合には果実部を使用するのが最も好ましく、クミスクチン (*Orthosiphon aristatus* Bl.)、カユプテ (*Melaleuca leucadendra* L.) を用いる場合には、葉部を使用するのが最も好ましい。また、上記3種の植物は、乾燥状態のもの、非乾燥状態のものいずれも好適に使用することができる。

【0011】上記植物の使用形態は特に限定されず、乾燥粉末をそのまま用いても、或いは抽出物を用いてもよい。また、乾燥粉末と抽出物を混合して用いてもよい。尚、抽出物を用いる場合、濃縮や乾燥によりエキスとして用いることも可能である。

【0012】抽出物を用いる場合、使用する抽出溶媒としては、極性溶媒、非極性溶媒或いはこれらの混合溶媒など、植物抽出に用いられる溶媒であればいずれのものでも限定されることなく使用することができる。具体的には、極性溶媒としては水 (或いは熱水)、メタノール、エタノール、イソプロパノール、*n*-プロパノール、イソブタノール、*n*-ヘキサノール、メチルアミルアルコール、2-エチルブタノール、*n*-オクタノール等のアルコール類、エチレングリコール、エチレングリコールモノメチルエーテル、エチレングリコールモノエチルエーテル、プロピレングリコール、プロピレングリコールモノメチルエーテル、プロピレングリコールモノエチルエーテル、トリエチレングリコール、1, 3-ブチレングリコール、ヘキシレングリコール等の多価アルコール又はその誘導体類、アセトン、メチルアセトン、メチルエチルケトン、メチルイソブチルケトン、メチル-*n*-プロピルケトン等のケトン類、酢酸エチル、酢酸イソプロピル等のエステル類、エチルエーテル、イソプロピルエーテル、*n*-ブチルエーテル等のエーテル類のうちの1種或いは2種以上の混合溶媒が好適に使用できる。また、非極性溶媒としては、石油エーテル、*n*-ヘ

キサン、*n*-ペンタン、*n*-ブタン、*n*-オクタン、シクロヘキサン等の脂肪族炭化水素類、四塩化炭素、クロロホルム、ジクロロメタン、トリクロロエチレン、ベンゼン、トルエン等のうちの1種或いは2種以上の混合溶媒が好適に使用できる。

【0013】ネジトウガラシ (*Helicteres isora* L., *Sterculiaceae*)、クミスクチン (*Orthosiphon aristatus* Bl.)、カユプテ (*Melaleuca leucadendra* L.) 及びこれらの抽出物は、そのままの状態でチロシナーゼ生成促進剤とすることもできるが、通常、公知の賦形剤や希釈剤、或いは他の任意の配合剤とともに混合して顆粒、エマルジョン、溶液、懸濁液などの剤型に調製して使用される。

【0014】本発明に係る頭髮用化粧料には上記チロシナーゼ生成促進剤が配合される。頭髮用化粧料中におけるチロシナーゼ生成促進剤の配合量は特に限定されないが、チロシナーゼ生成促進剤に用いられている植物の乾燥固形成分 (抽出物の場合には抽出に用いた植物の乾燥固形成分) として、化粧料全量中0.01~10重量%、より好ましくは0.1~5重量%配合されているのが望ましい。0.01重量%未満では白髪の色化という本発明の効果が十分に発揮されず、一方10重量%を超えて配合してもそれ以上の効果は期待できず、いずれの場合も好ましくないからである。

【0015】本発明に係る頭髮用化粧料には、上記チロシナーゼ生成促進剤以外に、本発明の効果を損なわない範囲で、塩化カルプロニウム、ペンタデカン酸グリセリド、センブリエキス、ビタミンE、トウガラシチンキ、卵胞ホルモン、イオウ、塩酸クロルヘキシジン、ヒノキチオール、プラセンタエキス、アミノ酸類等の育毛・養毛薬効成分、或いは紫外線吸収剤、界面活性剤、抗酸化剤、色素、香料等通常の頭髮用化粧料に使用される各種配合剤が、使用目的に応じて適宜配合される。

【0016】本発明に係る頭髮用化粧料の剤型は特に限定されず、例えば、ローション、乳液、クリーム、軟膏、パック、ゲル、フォーム等に調製される。

【0017】また、本発明に係る日焼け用化粧料にも上記チロシナーゼ生成促進剤が配合される。日焼け用化粧料中におけるチロシナーゼ生成促進剤の配合量は特に限定されないが、チロシナーゼ生成促進剤に用いられている植物の乾燥固形成分 (抽出物の場合には抽出に用いた植物の乾燥固形成分) として、化粧料全量中0.01~10重量%、より好ましくは0.1~5重量%配合されているのが望ましい。0.01重量%未満では肌の褐色化という本発明の効果が十分に発揮されず、一方10重量%を超えて配合してもそれ以上の効果は期待できず、いずれの場合も好ましくないからである。

【0018】本発明に係る日焼け用化粧料には、上記チロシナーゼ生成促進剤以外に、本発明の効果を損なわない範囲で、ヒアルロン酸、コラーゲン等の保湿剤、紫

外線吸収剤、各種ビタミン類、ホルモン類、動植物抽出物、油性成分、水性成分、界面活性剤、抗酸化剤、色素、香料等通常の皮膚用化粧品に使用される各種配合剤が、使用目的に応じて適宜配合される。

【0019】本発明に係る日焼け用化粧料の剤型は特に限定されず、例えば、ローション、乳液、クリーム、軟膏、パック、フォーム等に調製される。

【0020】

【実施例】以下、本発明を実施例及び比較例に基づき詳細に説明する。但し、本発明はこれらの実施例に限定されるものではない。

（実施例1）ネジトウガラシ(*Helicteres isora* L., *Sterculiaceae*)の果実の粉碎物100gに水600mlを加えて2時間還流抽出し、抽出液を濾過した後、濾液を濃縮して抽出物6.3gを得た。これを実施例1のチロシナーゼ生成促進剤とした。

【0021】（実施例2）クミスクチン(*Orthosiphon aristatus* Bl.)の葉の粉碎物100gに水600mlを加えて2時間還流抽出し、抽出液を濾過した後、濾液を濃縮して抽出物6.5gを得た。これを実施例2のチロシナーゼ生成促進剤とした。

【0022】（実施例3）カユブテ(*Melaleuca leucadendra* L.)の葉の粉碎物100gにメタノール600mlを加えて2時間還流抽出し、抽出液を濾過した後、濾液を濃縮して抽出物7.8gを得た。これを実施例3のチロシナーゼ生成促進剤とした。

【0023】（比較例1）p-アミノ安息香酸を比較例1のチロシナーゼ生成促進剤とした。

【0024】

【試験例】（試験例1）

チロシナーゼ生成率の測定

10%FBS-DMEMで培養したB16メラノーマ4A5（理研細胞銀行）を96well plateに 5×10^4 cells/wellとなるように播種し（全量195 μ l）、37℃、5%-CO₂の条件で24時間培養した。ここに実施例1～3及び比較例1のチロシナーゼ生成促進剤を最終濃度がそれぞれ1, 5, 10, 50ppmとなるように50%エタノール/PBS溶液で希釈し、さらに0.2 μ mのメンブランフィルターにて濾過滅菌したものを5 μ lずつ添加し、同一条件下でさらに24時間培養した。24時間培養後、培養液を取り除き、1%Triton X-100/PBS溶液50 μ lで細胞膜を可溶化した後、基質として10mM L-DOPA 100 μ lを加えて、37℃で3時間反応させ、マイクロプレートリーダーにて波長475nmにおける吸光度を測定した。また、対照としてチロシナーゼ生成促進剤を添加しない場合の反応系の吸光度を測定し、次式1（数1）に基づいてチロシナーゼ生成率（%）を算出した。

【数1】

$$\text{チロシナーゼ生成率 (\%)} = \frac{B}{A} \times 100$$

A：チロシナーゼ生成促進剤無添加の場合の吸光度

B：チロシナーゼ生成促進剤を添加した場合の吸光度

【0025】結果を表1に示す。

【表1】

濃度 (ppm)	実施例 1	実施例 2	実施例 3	比較例 1
50	162.6	157.4	121.7	100.8
10	159.6	144.6	125.4	98.8
5	146.0	140.1	145.7	100.0
1	138.4	137.6	118.8	98.9

【0026】（試験例2）

細胞生存率の測定

10%FBS-DMEMで培養したB16メラノーマ4A5（理研細胞銀行）を96well plateに 5×10^4 cells/wellとなるように播種し（全量195 μ l）、37℃、5%-CO₂の条件で24時間培養した。ここに前記実施例1～3及び比較例1のチロシナーゼ生成促進剤を最終濃度がそれぞれ1, 5, 10, 50ppmとなるように50%エタノール/PBS溶液で希釈し、さらに0.2 μ mのメンブランフィル

ターにて濾過滅菌したものを5 μ lずつ添加し、同一条件下でさらに24時間培養した。この培養細胞について生存率をMTT試験法によって測定した。まず、培養液を取り除き、各wellに10%の5mg/ml MTT溶液を含むD-MEM培地100 μ lを加え、37℃で4時間反応させた。反応後、0.04Nの塩酸-イソプロパノール溶液100 μ lを加え、30分間発色させた後、マイクロプレートリーダーにて波長570nm及び655nmにおける吸光度を測定した。また、対照としてチロシナーゼ生成促進剤を添加しない場合の吸光度

を測定し、これらの吸光度から次式 2 (数 2) に基づいて細胞生存率 (%) を算出した。

【数 2】

$$\text{細胞生存率 (\%)} = \frac{C}{D} \times 100$$

C : チロシナーゼ生成促進剤を添加した場合の吸光度
D : チロシナーゼ生成促進剤無添加の場合の吸光度
【0027】結果を表 2 に示す。

【表 2】

濃度 (ppm)	実施例 1	実施例 2	実施例 3	比較例 1
50	99.3	100.2	98.7	100.3
10	98.5	100.4	91.9	100.4
5	97.9	98.3	97.3	100.3
1	96.9	96.7	96.3	101.3

【0028】表 1 の結果より、ネジトウガラシ(Helicteris isora L., Sterculiaceae)、クミスクチン(Orthosiphon aristatus Bl.)、カユブテ(Melaleuca leucadendra L.) の抽出物からなるチロシナーゼ生成促進剤は、低濃度でも優れたチロシナーゼ生成促進作用を有していることがわかる。また、表 2 の結果より、ネジトウガラシ(Helicteris isora L., Sterculiaceae)、クミスクチン(Orthosiphon aristatus Bl.) 及びカユブテ(Melaleuca leucadendra L.) は、細胞に対する毒性がなく安全性が高いことがわかる。

【0029】以下、本発明に係る頭髮用化粧料及び日焼け用化粧料の処方例を示す。

(処方例 1)

白髪改善育毛剤	配合率 (重量%)	
実施例 1 で得られた		
ネジトウガラシ抽出物	10.0	
酢酸トコフェロール	0.1	30
セファランチン	0.002	
ニコチン酸ベンジル	0.1	
ヒノキチオール	0.1	
プロピレングリコール	2.0	
ポリオキシエチレン		
硬化ヒマシ油(E.O.60)	0.3	
香料	0.1	
エチルアルコール	60.0	
精製水	残部	
合 計	100.0	40

【0030】(処方例 2)

日焼けクリーム	配合率 (重量%)	
実施例 2 で得られた		
クミスクチン抽出物	5.0	
ステアリルアルコール	5.0	
オクチルドデカノール	10.0	
水添ラノリン	3.0	
ステアリン酸	2.0	
スクワラン	10.0	
α-ピサボロール	0.1	50

1, 3-ブチレングリコール	5.0
ポリエチレングリコール(MW1500)	5.0
ポリオキシエチレン	
セチルアルコールエーテル	3.0
モノステアリン酸グリセリン	2.0
ブチルパラベン	0.05
メチルパラベン	0.3
グリチルリチン酸ジカリウム	0.05
香料	0.1
精製水	残部
合 計	100.0

【0031】(処方例 3)

日焼けクリーム	配合率 (重量%)
実施例 3 で得られた	
カユブテ抽出物	5.0
ステアリルアルコール	5.0
オクチルドデカノール	10.0
水添ラノリン	3.0
ステアリン酸	2.0
スクワラン	10.0
α-ピサボロール	0.1
1, 3-ブチレングリコール	5.0
ポリエチレングリコール(MW1500)	5.0
ポリオキシエチレン	
セチルアルコールエーテル	3.0
モノステアリン酸グリセリン	2.0
ブチルパラベン	0.05
メチルパラベン	0.3
グリチルリチン酸ジカリウム	0.05
香料	0.1
精製水	残部
合 計	100.0

【0032】

【発明の効果】以上詳述した如く、請求項 1 に係る発明は、ネジトウガラシ(Helicteris isora L., Sterculiaceae)、クミスクチン(Orthosiphon aristatus Bl.)、カユブテ(Melaleuca leucadendra L.) 及びこれらの抽出

物のうちの少なくとも 1 種が有効成分として配合されることを特徴とするチロシナーゼ生合成促進剤に関するものであるから、細胞に毒性を与えることなくチロシナーゼの生合成を促進し、人の毛髪や皮膚の色に重要な影響を与えるメラニンの生成を安全に促進させることができる。従って、毛髪の黒色化や肌の褐色化を目的とする化粧料や医薬品、医薬部外品等の配合剤として好適に使用することができるという優れた効果を奏する。

【0033】また、請求項 2 に係る発明は、請求項 1 記載のチロシナーゼ生合成促進剤が配合されてなることを特徴とする頭髪用化粧料に関するものであるから、頭皮

細胞に毒性を与えることなくチロシナーゼの生合成を促進させることにより、白髪の黒色化を促進することができ、また、白髪を防止することができるという効果を奏する。

【0034】更に、請求項 3 に係る発明は、請求項 1 記載のチロシナーゼ生合成促進剤が配合されてなることを特徴とする日焼け用化粧料に関するものであるから、皮膚細胞に毒性を与えることなくチロシナーゼの生合成を促進させることにより、安全に肌を褐色化することができるという効果を奏する。

10

フロントページの続き

(72)発明者 松山 芳浩
大阪市中央区十二軒町 5 番12号 株式会社
マンダム中央研究所内
(72)発明者 仲原 聡
大阪市中央区十二軒町 5 番12号 株式会社
マンダム中央研究所内

(72)発明者 橋垣 智至
大阪市中央区十二軒町 5 番12号 株式会社
マンダム中央研究所内
(72)発明者 藤原 延規
大阪市中央区十二軒町 5 番12号 株式会社
マンダム中央研究所内